1003871001-123B
（第２版）

体外診断用医薬品

PIVKA-II

Immuno Enzymometric Assay

PIVKA-Ⅱキット

ST

Eテスト「TOSOH」Ⅱ（PIVKA-Ⅱ）

1003871001-123B
体外診断用医薬品

＊ 2013 年 12 月改訂（第 2 版）
2013 年 6 月作成（第 1 版）
承認番号 22500AMX00982000

この添付文書をよく読んでから使用してください。

PIVKA - Ⅱキット

ST Eテスト「TOSOH」Ⅱ（PIVKA - Ⅱ）免疫反応試薬セット

＊ EIA 法による血清又はヘパリン血漿中の異常プロトロンビン（PIVKA- Ⅱ）測定用試薬

[全般的な注意]

1. 本品は体外診断用医薬品ですので、それ以外の目的には使用しないでください。
2. 疾患の診断には他の検査成績や臨床症状を考慮して総合的に判断してください。
3. 添付文書以外の使用については保証を致しません。
4. 本キットの構成試薬については、HBs 抗原、HIV 抗体及び HCV 抗体が陰性であることが確認されていますが被検検体の取扱いと同様に取扱いには注意してください。
5. 全自動エンザイムイムノアッセイ装置をご使用の際には、装置添付の取扱説明書をよく読んでから使用してください。
6. 本品は全自動エンザイムイムノアッセイ装置 AIA-21 及び AIA-360 での使用はできません。

[形状・構造等（キットの構成）]
本製品のご使用の際には、本添付文書のほかそれぞれの添付文書もご参照ください。

1. Eテスト「TOSOH」Ⅱ（PIVKA - Ⅱ）免疫反応試薬セット
   （1）Eテスト「TOSOH」Ⅱ（PIVKA - Ⅱ）免疫反応試薬
   ビーズ固定化抗 PIVKA- Ⅱマウスモノクローナル抗体
   （2）Eテスト「TOSOH」Ⅱ（PIVKA - Ⅱ）酵素標識試薬
   抗プロトロンビンウサギポリクローナル抗体
   アルカリ性ホスファターゼ結合物
2. Eテスト「TOSOH」Ⅱ基質セット（ラベルに**桃色**で **SUB Ⅱ** と表示）
   （1）Eテスト「TOSOH」Ⅱ基質
   4－メチルウンベリフェリルりん酸
   （2）Eテスト「TOSOH」Ⅱ基質溶解液
3. Eテスト「TOSOH」Ⅱ（PIVKA - Ⅱ）標準品セット
   Eテスト「TOSOH」Ⅱ（PIVKA - Ⅱ）標準品（1）
   Eテスト「TOSOH」Ⅱ（PIVKA - Ⅱ）標準品（2）
   Eテスト「TOSOH」Ⅱ（PIVKA - Ⅱ）標準品（3）
   Eテスト「TOSOH」Ⅱ（PIVKA - Ⅱ）標準品（4）
   Eテスト「TOSOH」Ⅱ（PIVKA - Ⅱ）標準品（5）
   Eテスト「TOSOH」Ⅱ（PIVKA - Ⅱ）標準品（6）
4. Eテスト「TOSOH」Ⅱ（PIVKA - Ⅱ）検体希釈液
5. Eテスト「TOSOH」Ⅱ洗浄液
6. Eテスト「TOSOH」Ⅱ分注液

＊[使用目的]

血清又は血漿中の異常プロトロンビン（PIVKA- Ⅱ）の測定（悪性腫瘍の診断補助等）

[測定原理]

1. 特徴

1） 抗 PIVKA- Ⅱマウスモノクローナル抗体と抗プロトロンビンウサギポリクローナル抗体を用いた 2 ステップサンドイッチ EIA（IEMA）法です。
2） 抗原抗体反応から蛍光測定まで専用の試薬カップ内で行われるため、コンタミネーションやキャリーオーバーがほとんどありません。
3） 全自動エンザイムイムノアッセイ装置（AIA-2000、AIA-1800、AIA-900 及び AIA-600 Ⅱ）を用いて、短時間で自動測定できます。
4） 放射性同位元素を使用していませんので、そのための特殊な設備を必要としません。

＊2. 測定原理

本法の原理は抗 PIVKA- Ⅱマウスモノクローナル抗体と抗プロトロンビンウサギポリクローナル抗体を用いた 2 ステップサンドイッチ EIA 法です。磁性ビーズに固定化された抗 PIVKA- Ⅱマウスモノクローナル抗体が凍結乾燥体として試薬カップに封入されています。この試薬カップに検体と分注水を注入すると、凍結乾燥試薬が溶解し第一免疫反応が開始します。一定時間・一定温度でインキュベートした後、洗浄水で洗浄することにより、遊離の検体成分を除去します（B/F 分離）。B/F 分離後、アルカリ性ホスファターゼ標識抗プロトロンビンウサギポリクローナル抗体を加えることにより第二免疫反応が開始します。

一定時間・一定温度でインキュベートした後、洗浄水で洗浄することにより、遊離の酵素標識抗体を除去します（B/F 分離）。この後、磁性ビーズに結合した酵素活性を測定するために基質として 4－メチルウンベリフェリルりん酸を添加し、蛍光物質（4－メチルウンベリフェロン）の生成速度を測定することにより、血清又はヘパリン血漿中の PIVKA- Ⅱ濃度を知ることができます。

[操作上の注意]

＊1. 検体には新鮮な血清又はヘパリン血漿を用いてください。（ヘパリン血漿以外の血漿は用いないでください。）検体を分取する場合は、溶血させないようご注意ください。検体を保存する場合は、2 ～ 8 ℃で保存し、7 日以内に測定してください。7 日以内に測定しない場合は、−20 ℃以下で凍結保存し、60 日以内に測定してください。2 ～ 8 ℃保存又は凍結保存した検体をご使用の際には、15 ～ 25 ℃に戻してから使用してください。
2. 凍結保存検体の凍結融解の繰り返しは避けてください。
3. 検体の希釈にはEテスト「TOSOH」Ⅱ（PIVKA - Ⅱ）検体希釈液を用い、十分に混和してください。
＊4. 妨害物質
ヘモグロビンは 1,000 mg/dL まで、遊離型ビリルビンは 17 mg/dL まで、抱合型ビリルビンは 19 mg/dL まで、イントラリピッド（静注用脂肪乳剤）は 1,600 mg/dL まで、アルブミンは 5.0 g/dL まで、アスコルビン酸は 20 mg/dL まで、ヘパリン・Na は 100 U/mL（日本薬局方定量法による）まで、それぞれ検体に添加しても測定値に影響を与えないことが確認されています。
5. ビタミン K 剤を投与された患者検体では、PIVKA- Ⅱ量が減少することがありますので注意してください。
6. ビタミン K 拮抗剤（ワーファリン等）及び抗生物質の投与により PIVKA- Ⅱ量が上昇することがありますので注意してください。
7. 持続飲酒しているアルコール性肝障害患者においては、PIVKA- Ⅱが陽性（カットオフ値以上）となることがありますので、注意してください。
8. 2 ～ 8 ℃保存されていた試薬をご使用の際には、15 ～ 25 ℃に戻してから使用してください。

[用法・用量（操作方法）]

1. 試薬の調製方法及び調製後の貯法・有効期間

1） 免疫反応試薬
Eテスト「TOSOH」Ⅱ（PIVKA - Ⅱ）免疫反応試薬の防湿袋を開封して使用してください。開封後の免疫反応試薬は、15 ～ 25 ℃での累積時間として 240 時間以内に使用してください。例えば、1 日あたり 15 ～ 25 ℃に 8 時間、2 ～ 8 ℃に 16 時間保存することを毎日繰り返した場合は 30 日に相当します。
但し、一度防湿袋を開封した免疫反応試薬は、2 ～ 8 ℃に保存していたとしても、30 日を超えては使用しないでください。

2） 酵素標識試薬
Eテスト「TOSOH」Ⅱ（PIVKA - Ⅱ）酵素標識試薬は液体ですので、開封後、そのまま使用してください。開封後は、15 ～ 25 ℃での累積時間として 24 時間有効です。例えば、15 ～ 25 ℃で 1 日に 8 時間開封して使用し、使用後直ちに密封して 2 ～ 8 ℃で保存した場合は、3 日間有効です。
但し、一度開封した酵素標識試薬は、2 ～ 8 ℃に保存していたとしても、14 日を超えては使用しないでください。

3） 基質液
Eテスト「TOSOH」Ⅱ基質 1 びんにEテスト「TOSOH」Ⅱ基質溶解液 1 びん（100 mL）を加えて基質液を調製してください。調製後は遮光下、15 ～ 25 ℃で 3 日間、2 ～ 8 ℃保存で 30 日間有効です（直射日光、紫外線に当てないように注意してください）。

4） 標準品
Eテスト「TOSOH」Ⅱ（PIVKA - Ⅱ）標準品（1）は液体ですので、開封後、必要量を検体カップにとりそのまま使用してください。Eテスト「TOSOH」Ⅱ（PIVKA - Ⅱ）標準品（2）～（6）は凍結乾燥品ですので、それぞれ精製水 1.0 mL を加え、ゴム栓を閉めて、十分に転倒混和して完全に溶解してから使用してください。いずれも開封後あるいは調製後は密封するならば、2 ～ 8 ℃保存で 1 日間有効です。
Eテスト「TOSOH」Ⅱ（PIVKA - Ⅱ）標準品の表示濃度は、社内標準品を基準として決めたものです。

5） 検体希釈液
Eテスト「TOSOH」Ⅱ（PIVKA - Ⅱ）検体希釈液は液体ですので、開封後、そのまま使用してください。開封後は、15 ～ 25 ℃での累積時間として 48 時間有効です。例えば、15 ～ 25 ℃で 1 日に 8 時間開封して使用し、使用後直ちに密封して 2 ～ 8 ℃で保存した場合は、6 日間有効です。
また、全自動エンザイムイムノアッセイ装置に検体希釈液をセットしない場合（自動希釈機能を利用しない場合）に限り、毎回使用後直ちに密封し 2 ～ 8 ℃で保存するならば 90 日間有効です。

6） 洗浄水
Eテスト「TOSOH」Ⅱ洗浄液 1 びんを適量の精製水で希釈して 2.5 L とし、濃度勾配を生じないよう十分に混和して、洗浄水を調製してください。調製後は、15 ～ 25 ℃放置で 30 日間有効です。

7） 分注水
Eテスト「TOSOH」Ⅱ分注液 1 びんを適量の精製水で希釈して 5 L とし、濃度勾配を生じないよう十分に混和して、分注水を調製してください。調製後は、15 ～ 25 ℃放置で 30 日間有効です。

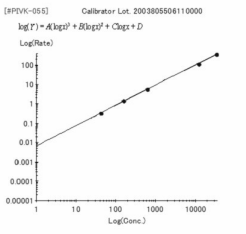
2. 必要な器具・器材・試薬等

1） 検体測定時には精度管理用サンプルを測定し、ご施設での日常の精度管理を実施してください。なお、精度管理用サンプルとしては、エイテスト コントロールセットをお薦めします。
2） 測定の際には、必要に応じてピペット、サンプルカップ、サンプルチップ等を用意してください。

3. 測定（操作）法

1） Eテスト「TOSOH」Ⅱ（PIVKA - Ⅱ）免疫反応試薬の試薬カップのアルミシールを破ります。
2） この試薬カップに分注水 100 μL と、標準品又は検体 50 μL を正確に加え、磁石で磁性ビーズを振動させながら撹拌し、37 ℃で 10 分間、第一免疫反応を行います。
3） 試薬カップを洗浄水で洗浄し、遊離の検体成分を除去します（B/F 分離）。
4） 試薬カップにEテスト「TOSOH」Ⅱ（PIVKA - Ⅱ）酵素標識試薬 100 μL を正確に加え、磁石で磁性ビーズを振動させながら撹拌し、37 ℃で 10 分間、第二免疫反応を行います。
5） 試薬カップを洗浄水で洗浄し、遊離の酵素標識抗体を除去します（B/F 分離）。
6） 基質液を一定量注入した後、磁性ビーズを振動・撹拌させながら、酵素反応により生成した蛍光物質の蛍光強度を落射型蛍光光度計を用いて、励起波長 363 nm、蛍光波長 447 nm で測定し、蛍光物質の生成速度を算出します。
＊7） 標準品に対する蛍光物質の生成速度から検量線を作成し、検体中の PIVKA- Ⅱ濃度を算出します。
なお、検量線は次の場合に作成します。
① 免疫反応試薬セットのロットの変更時
② 同一の免疫反応試薬セットロットにおいて、検量線作成後 90 日を超えた場合
③ 精度管理用サンプルの値が変動するなど検量線の状態が適切でないと考えられた場合
8） 測定結果が 30,000 mAU/mL を超えたときは、検体希釈液を用いて、適宜希釈率を変えて検体を希釈し、同様の操作 1）～ 7）により再測定します。

全自動エンザイムイムノアッセイ装置 AIA-2000 を使用したときに得られる検量線の例を次に示します。



[測定結果の判定法]

1. 測定結果の判定

1) Eテスト「TOSOH」II（PIVKA - Ⅱ）標準品セットを用いて作成した検量線から検体中の PIVKA- Ⅱ濃度を算出します。
2) 結果を判定するための基準値は各検査施設で設定してください。
3) 参考基準範囲
健常者 126 人について、血清中の PIVKA- Ⅱ濃度を測定したところ、37.8 mAU/mL 以下でした。
なお、参考基準範囲は種々の要因で変動しますので、各施設にて設定願います。

2. 判定上の注意

1) 免疫測定法では、非特異反応が生じる場合があります。
2) 疾患の診断には他の検査成績や臨床症状を考慮して総合的に判断してください。

[臨床的意義]

PIVKA- Ⅱは、ビタミン K 欠乏時に肝細胞から合成される異常プロトロンビンであり、肝細胞癌で特異的に上昇します（*1*）。PIVKA- Ⅱは AFP（α−フェトプロテイン）とは相関性のない相補的なマーカーであり、肝細胞癌の診断や、治療効果の判定及び再発時の診断補助に有用とされています（*2–6*）。

[性能]

1. 感度

1) Eテスト「TOSOH」II（PIVKA - Ⅱ）標準品（1）の蛍光単位（FU）は 0.35（nmol/(L･s)）以下です。
2) Eテスト「TOSOH」II（PIVKA - Ⅱ）標準品（1）とEテスト「TOSOH」II（PIVKA - Ⅱ）標準品（2）（20 ～ 80 mAU/mL）の FU を測定して、PIVKA- Ⅱ濃度に対する FU の比［注 1］を求めると、0.004（nmol/（L･s））/（mAU/mL）以上となります。
［注 1］FU の比は、下式により計算しました。
FU の比 =（A − B）／C
A：標準品（2）の FU　（nmol/（L･s））
B：標準品（1）の FU　（nmol/（L･s））
C：標準品（2）の PIVKA- Ⅱ濃度　（mAU/mL）

2. 正確性

PIVKA- Ⅱ濃度の異なる 3 種類（20 ～ 80 mAU/mL、151 ～ 3,000 mAU/mL、15,001 ～ 30,000 mAU/mL）の濃度既知コントロール［注 2］を測定するとき、その測定値は表示濃度の 100±20 %以内です。
［注 2］濃度既知コントロールとは、東ソー PIVKA- Ⅱ標準品を対照としてEテスト「TOSOH」II（PIVKA - Ⅱ）を用いて測定し、表示濃度を定めた血清をいいます。
なお、東ソー PIVKA- Ⅱ標準品とは、「東ソー PIVKA- Ⅱ一次標準品」及び「東ソー PIVKA- Ⅱ一次標準品を基準にして調製した標準品」を総称したものです。

3. 同時再現性

PIVKA- Ⅱ濃度の異なる 3 種類（20 ～ 80 mAU/mL、151 ～ 3,000 mAU/mL、15,001 ～ 30,000 mAU/mL）の濃度既知コントロールについて、同一コントロールを 5 回同時に測定するとき、それぞれの測定値の変動係数は 15 %以下です。

4. 測定範囲：5.0 ～ 30,000 mAU/mL

低濃度検出限界 5.0 mAU/mL は、標準品（1）～（6）の測定値から検量線を作成し、標準品（1）の FU の平均値 ＋ 2 × SD（5 回測定の標準偏差）に対する濃度として算出しました。

＊5. 相関性試験成績

1) 血清を用いて本法（y）と A 社 ECLIA 法（x）との相関性を検討した結果は以下のとおりでした。
y = 0.9 x − 110
r = 1.0
n = 137
2) 血清を用いて本法（y）と B 社 CLEIA 法（x）との相関性を検討した結果は以下のとおりでした。
y = 1.1 x ＋ 42.4
r = 1.0
n = 137
3) 本法でヘパリン血漿（y）と血清（x）との相関性を検討した結果は以下のとおりでした。
y = 1.0 x ＋ 23.2
r = 1.0
n = 120

[使用上又は取扱い上の注意]

1. 使用上の注意

1) 使用期限を過ぎた試薬は使用しないでください。
2) 試薬トレイ間での試薬カップの載せ替えは、試薬の誤った識別につながりますので、絶対に行わないでください。特に、免疫反応試薬を試薬トレイごとセットする機種は、項目名及びロット番号の識別を試薬トレイのバーコード情報でのみ行い、個々の試薬カップのドットコードでは行いませんのでご注意ください。
3) 検量線を作成する場合には、新しく防湿袋を開封した免疫反応試薬と酵素標識試薬を使用してください。
4) 検量線の有効期間は 90 日です。これを過ぎた場合は、新たに検量線を作成してください。また、精度管理用サンプルの測定値が変動するなど検量線の状態が適切でないと考えられる場合には、90 日以内であっても検量線を作成しなおしてください。
5) 検体測定の際は、精度管理用サンプルを 1 日に 1 回以上測定し、測定値に異常がないことを確認してください。
＊6) 本品は血清又はヘパリン血漿中の PIVKA- Ⅱ測定試薬ですので、検体には血清又はヘパリン血漿のみを用いてください。
7) 測定には新鮮な検体を用いてください。検体を保存する場合は、2～8 ℃で保存し、7 日以内に測定してください。7 日以内に測定しない場合は、−20 ℃以下で凍結保存し、60 日以内に測定してください。凍結融解の繰り返しは避けてください。
8) 検体には異好抗体を含むものがあり、動物由来の抗体を用いた測定系では正しい測定値が得られないことがあります。また、各種疾患の治療等の目的でご使用になった薬物の影響により、測定値が変動することがあります。疾患の診断には他の検査成績や臨床症状を考慮して総合的に判断してください。
9) 試験器具などの汚れは判定を誤らせる場合がありますので、清浄なものを使用してください。
10) 本製品のご使用にあたっては、次に示す別売の試薬と組み合わせてください。
Eテスト「TOSOH」II（PIVKA - Ⅱ）標準品セット
Eテスト「TOSOH」II（PIVKA - Ⅱ）検体希釈液
Eテスト「TOSOH」II 基質セット（ラベルに**桃色**で **SUB II** と表示）
Eテスト「TOSOH」II 洗浄液
Eテスト「TOSOH」II 分注液
11) 異なるロットの免疫反応試薬セット中の免疫反応試薬と酵素標識試薬を組み合わせて使用することはできません。
12) 酵素標識試薬 1 本が、免疫反応試薬 1 トレイ（20 テスト）の測定分に相当します。濃縮やコンタミネーションの影響を軽減するため、新しく防湿袋を開封した免疫反応試薬を使用するときは、できるだけ酵素標識試薬も新しく開封したものを使用してください。なお、酵素標識試薬に不足がなければ、測定中に酵素標識試薬を新しいものに変更する必要はありませんが、測定終了時には新しい酵素標識試薬に変更してください。
13) 酵素標識試薬のびん中の残液量が少なくなると、水分蒸発に伴う濃縮の影響が大きくなります。測定終了時の残量が 1.5 mL 未満である場合は、それ以上使用しないで廃棄してください。
14) 開封後の酵素標識試薬及び検体希釈液を保存する際は、密封してください。密封に用いるゴム栓等の汚れは、試薬劣化の原因となりますので、清浄なものを使用してください。
15) 酵素標識試薬及び検体希釈液の注ぎ足しは、濃縮やコンタミネーションによる試薬劣化の原因となりますので、同一ロットであっても絶対に行わないでください。残液は廃棄してください。
16) 調製後の基質液は、血清、ごみ、金属類、微生物などの混入により酵素基質成分の分解が促進される場合がありますので、清浄な状態で保存してください。

2. 取扱い上（危険防止）の注意

1) 試料（検体）は HIV、HBV、HCV 等の感染の恐れがあるものとして取り扱ってください。検査にあたっては感染の危険性を避けるために使い捨て手袋を着用し、また口によるピペッティングを行わないでください。
2) 本品には保存剤としてアジ化ナトリウムが含まれています。使用に際しては、誤って目や口に入ったり、皮膚に付着した場合には水で十分に洗い流す等の応急措置を行い、必要があれば医師の手当て等を受けてください。

3. 廃棄上の注意

1) 本品には保存剤としてアジ化ナトリウムが含まれています。アジ化ナトリウムは鉛管、銅管と反応して爆発性のある金属アジドを生成することがありますので、廃棄する場合は、多量の水で薄めるようにしてください。
2) 検体の付着したピペットチップ、手袋などの器具、及び測定終了後の試薬カップはオートクレーブ（例えば 121 ℃、20 分以上）などで滅菌後廃棄してください。
3) 試薬及び器具等を廃棄する場合は、廃棄物の処理及び清掃に関する法律、水質汚濁防止法等の規定に従って処理してください。

[貯蔵方法・有効期間]

1. 貯蔵方法　2 ～ 8 ℃保存
2. 有効期間　12 ケ月
※使用期限は、箱、アルミ袋及びトレイ又はびんのラベルに記載されています。

＊[包装単位]

品名	包装
ST Eテスト「TOSOH」II（PIVKA - Ⅱ）免疫反応試薬セット	100 回測定分

※別売品

品名	包装
ST Eテスト「TOSOH」II（PIVKA - Ⅱ）標準品セット	標準品 (1)：1.0 mL 入り ×2 本 標準品 (2)-(6)：各 1.0 mL 用 ×2 本
ST Eテスト「TOSOH」II（PIVKA - Ⅱ）検体希釈液	4.0 mL 入り ×4 本
Eテスト「TOSOH」II 基質セット Eテスト「TOSOH」II 基質 Eテスト「TOSOH」II 基質溶解液	 100 mL 用 ×2 本 100 mL 入り ×2 本
Eテスト「TOSOH」II 洗浄液	100 mL 入り ×4 本
Eテスト「TOSOH」II 分注液	100 mL 入り ×4 本

[主要文献]

1. Liebman HA., et al., Des-Gamma-Carboxy (Abnormal) Prothrombin as a Serum Marker of Primary Hepatocellular Carcinoma. N Engl J Med., 310, 1427-1431 (1984).
2. Hakamada K., et al., Des-gamma-carboxy prothrombin as an important prognostic indicator in patients with small hepatocellular carcinoma. World J Gastroenterol., 14, 1370-1377 (2008).
3. Nakamura S., et al., Sensitivity and Specificity of Des-Gamma-Carboxy Prothrombin for Diagnosis of Patients with Hepatocellular Carcinomas Varies According to Tumor Size. The American Journal of Gastroenterology., 101, 2038-2043 (2006).
4. Ikoma J., et al., Early diagnosis of hepatocellular carcinoma using a sensitive assay for serum des-gamma-carboxy prothrombin: a prospective study. Hepatogastroenterology., 49, 235-238 (2002).
5. Nakagawa T., et al., Clinicopathologic significance of protein induced vitamin K absence or antagonist II and alpha-fetoprotein in hepatocellular carcinoma. Int J Oncol., 14, 281-286 (1999).
6. Volk ML., et al., Risk factors for hepatocellular carcinoma may impair the performance of biomarkers: a comparison of AFP, DCP, and AFP-L3. Cancer Biomark., 3, 79-87 (2007).

［問い合わせ先］

エーディア株式会社　カスタマーサポートセンター
フリーダイアル（0120）921-207
FAX.（03）3864-5644

エーザイ株式会社　hhc ホットライン
フリーダイアル（0120）419-497
FAX.（03）3811-4946

東ソー株式会社 バイオサイエンス事業部
カスタマーサポートセンター
〒252-1123 神奈川県綾瀬市早川 2743-1
フリーダイアル（0120）17-1200
TEL.（0467）76-5384
FAX.（0467）79-2550

［製造販売業者の氏名又は名称及び住所］

製造販売元

東ソー株式会社
東京都港区芝 3-8-2
TEL. (03)5427-5181
FAX.(03)5427-5220

製造元

東ソー・エイアイエイ株式会社
富山県富山市岩瀬古志町 2 番地

販売元

エーディア株式会社
東京都千代田区岩本町1-10-6

販売提携

エーザイ株式会社
東京都文京区小石川 4-6-10